식물생명공학회지 제31권 제2호
Korean J. Plant Biotechnol.
Vol. 31, No. 2, 109~113 (2004)

CuZnSOD와 APX를 엽록체에 발현시킨 산화스트레스 내성 형질전환 감자의 선발

탕리[1,3], 권석윤[2], 성창근[3], 곽상수[2], 이행순[1*]
[1]한국생명공학연구원 식물세포공학연구실, [2]환경생명공학연구실, [3]충남대학교 식품공학과

Selection of Transgenic Potato Plants Expressing Both CuZnSOD and APX in Chloroplasts with Enhanced Tolerance to Oxidative Stress

Li Tang[1,3], Suk-Yoon Kwon[2], Sang-Soo Kwak[2], Chang K Sung[3], Haeng-Soon Lee[1*]
[1]Laboratory of Plant Cell Biotechnology
[2]Laboratory of Environmental Biotechnology, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), Eoeun-dong 52, Yuseong, Daejeon 305-806, Korea
[3]Department of Food Biotechnology, Chungnam National University, Daejeon 305-348, Korea

ABSTRACT In order to develop transgenic potato plants with enhanced tolerance to multiple stress, we constructed the transformation vector expressing both superoxide dismutase and ascorbate peroxidase genes in chloroplasts under the control of a stress-inducible *SWPA2* promoter. Transgenic potato plants (cv. Superior and Atlantic) were generated using an *Agrobacterium*-mediated transformation system. Transgenic potato plants were regenerated on MS medium containing 100 mg/L kanamycin. Genomic Southern blot analysis confirmed the incorporation of foreign genes into the potato genome. When potato leaf discs were subjected to methyl viologen (MV) at 10 μM, transgenic plants showed higher tolerance than non-transgenic or vector-transformed plants. To further study we selected the transgenic plant lines with enhanced tolerance against MV. These plants will be used for further analysis of stress-tolerance to multiple environmental stresses.

Key words: Ascorbate peroxidase, oxidative stress, *Solanum tuberosum*, superoxide dismutase, transformation

서 론

급격한 인구증가와 산업화에 따른 환경문제는 매우 심각한 실정으로 재배 작물 가운데는 각종 환경스트레스로 인하여 생산성이 문제가 되는 경우가 대두되고 있다. 최근 유전체 연구의 발전으로 특정 유전자만을 도입하는 분자육종에 의한 GMO 신품종 개발이 이루어지고 있다. 특히 환경스트레스에 대한 내성을 향상시키기 위하여 항산화기구를 강화시킨 형질전환 식물체 개발에 관한 많은 연구가 진행되고 있고, 금후 환경재해에 강한 실용적인 농작물의 분자육종이 기대되고 있다 (Foyer et al. 1994; McKersie et al. 1996; Van Camp et al. 1996; Roxas et al. 1997; Oberschall et al. 2000; Kwon et al. 2002, 2003).

식물을 포함한 대다수의 호기성 생물은 환경스트레스를 받으면 생체내 산소는 superoxide anion radical ($\cdot O_2^-$), hydrogen peroxide (H_2O_2), hydroxyl radical ($\cdot OH$) 등의 반응성이 높은 독성의 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)으로 변하게 된다 (Allen 1995). ROS의 과다 발생은 세포막 분해, 단백질 분해, DNA합성 억제, 광합성 억제, 엽록체 파괴 등 생체 내에 생리적 장해를 주고 심할 경우 세포사멸을 초래한다 (Inze and Van Montagu 1995). 그러나 이러한 ROS는 superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) 등의 항산화효소와 ascorbic acid,

*Corresponding author Tel 042-860-4439 Fax 042-860-4608
E-mail hslee@kribb.re.kr

α-tocopherol, glutathione 등의 저분자 항산화물질에 의해 효율적으로 제거된다 (Allen 1995).

엽록체는 산소농도가 높을 뿐 아니라 고에너지 전자전달계를 가지고 있어, 외부의 환경스트레스 조건에서 ROS를 과다하게 생성하여 산화스트레스를 초래할 가능성이 매우 높은 기관이다. 따라서 스트레스 조건에서 엽록체의 산화스트레스를 극복할 수 있도록 항산화기구를 효율적으로 조절할 수 있으면 식물의 생산성 즉 광합성 효율을 유지시키거나 증가시킬 수 있을 것으로 기대된다. 엽록체의 항산화기구를 설명하는 Water-Water cycle (Asada 1999)에는 SOD, ascorbate peroxidase (APX), monodehydroascorbate reductase (MDHAR), dehydroascorbate reductase (DHAR), glutathione reductase (GR) 등이 관여하여 효율적으로 ROS를 제거할 수 있음이 제시되고 있다. 하지만, 악화된 환경에서는 엽록체가 가지고 있는 항산화기구만으로는 산화스트레스를 극복하기에는 충분하지 않기 때문에, 항산화효소 또는 저분자 항산화물질이 적절하게 발현될 수 있는 대사공학적 방법에 의한 엽록체의 항산화기구를 강화하는 것이 중요하다. 저자들은 copper/zinc SOD (CuZnSOD)와 APX를 동시에 엽록체에 발현시킨 담배 식물체가 복합스트레스에 강한 특성이 있음을 밝혔다 (Kwon et al. 2002).

대부분의 형질전환체 개발에는 항상 강하게 발현되는 CaMV 35S 프로모터가 주로 사용되었다. 하지만, 형질전환체 개발 시에 특정 조건에서만 발현이 유도되는 프로모터를 사용할 경우 필요없는 물질대사를 배제할 수 있어 효율적으로 도입된 유전자 발현을 유도할 수 있을 것이다. 따라서 환경스트레스 내성 형질전환체 개발에는 산화스트레스 조건에서 발현이 강하게 유도되는 *SWPA2* 프로모터 (Kim et al. 2003) 등의 사용이 매우 바람직할 것이다. 본 연구에서는 산화스트레스에 의해 발현이 강하게 유도되는 *SWPA2* 프로모터를 이용하여 CuZnSOD와 APX를 동시에 엽록체에서 발현하는 형질전환 벡터를 제작하여 복합 환경 스트레스에 내성을 가진 감자를 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

식물재료

감자 (*Solanum tuberosum* L.) 형질전환에는 국내에서 식용인 수미 (Superior)와 가공용인 대서 (Atlantic) 품종을 기내에서 증식시켜 사용하였다. 식물체 증식은 MS (Murashige and Skoog 1962) 배지에 sucrose를 3% 첨가하여 16시간 일장, 40 μmol · m^{-2} · sec^{-1}의 cool-white 형광, 25℃의 배양실에서 배양하였으며 2주 동안 배양한 잎과 줄기조직을 형질전환 재료로 사용하였다.

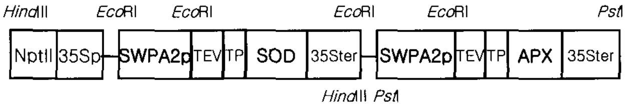

Figure 1. Plant transformation vector, pSSA-K. SWPA2p, sweetpotato peroxidase (SWPA2) promoter; SOD, cassava CuZnSOD (mSOD1); APX, pea ascorbate peroxidase; TEV, tobacco etch virus 5′-UTR; 35Sp, CaMV 35S promoter; 35Ster, CaMV 35S terminator; TP, chloroplast-targeted transit peptide.

형질전환 벡터 제작

고구마 배양세포에서 분리한 산화스트레스 유도성 *SWPA2* 프로모터 (Kim et al. 2003)를 이용하여 카사바 cytosolic CuZnSOD cDNA, *mSOD1* (Lee et al. 1999)과 완두 APX (Allen et al. 1997)가 동시에 엽록체에서 발현될 수 있도록 연결시킨 후, neomycin phosphotransferase (*nptII*) 유전자를 선발표지로 가지고 있는 pCAMBIA2300에 도입한 벡터를 제작하여 pSSA-K라 명명하였다 (Figure 1). 이것을 *Agrobacterium tumefaciens* EHA105에 도입하였으며, 또한 대조구로 이용하기 위하여 pCAMBIA2300 벡터만 도입된 *Agrobacterium*도 준비하였다.

형질전환 및 식물체 재분화

형질전환은 기내에서 배양중인 식물체에서 신초의 위에서부터 2-3번째 잎과 줄기조직을 절취하여 Youm 등 (2002)의 방법에 따라 *Agrobacterium*과 공동배양하였다. 공동배양 후 잎과 줄기 절편체를 MS 기본 액체배지로 씻어 선발배지 (MS + 2 mg/L zeatin + 0.01 mg/L NAA 0.1 mg/L GA_3 + 400 mg/L claforan + 100 mg/L kanamycin)에서 배양하였다. 3주 간격으로 새로운 배지로 계대배양한 후, 선발배지에서 유도된 shoot은 뿌리 유도를 위해 뿌리유도배지 (MS 기본배지 + 400 mg/L claforan + 100 mg/L kanamycin)로 옮기고 뿌리가 발생하면 4~5일간 순화시켜 화분으로 옮겨 배양기에서 재배하였다.

형질전환체 선발 및 Southern blot 분석

Kanamycin 함유배지에 일차적으로 선발된 재분화 식물체를 PCR로 확인하였다. PCR에 사용된 primer는 *SWPA2* 프로모터의 특이 염기서열 부분을 사용하였다. PCR로 형질전환이 확인된 감자 식물체를 벡터별로 무작위로 선발하여 Southern분석을 실시하였다. 배양기에서 생육중인 감자 식물체의 잎으로부터의 genomic DNA 분리는 Asemota (1995)의 방법에 따라 수행하였다. 분리한 DNA (30 μg)를 *Eco*RI으로 각각 절단하여 0.8% agarose gel에 전기영동한 후, Zeta Probe membrane (Bio-Rad 제품)으로 전이시켰다. Probe는 *SWPA2* 프로모터 특이부분에서 제작된 primer를

이용하여 polymerase chain reaction (PCR)로 합성하여 이용하였다 (593 bp). 이 DNA를 동위원소 [α-^{32}P] dCTP로 labelling시켜 prehybridization용액 (Zeta Probe membrane용)에 첨가하여 60℃에서 24시간 동안 혼성화시켰다. 반응을 마친 membrane을 세척하고 X-ray 필름에 노출시켜 밴드를 확인하였다.

Methyl viologen 처리

MV 처리를 위하여 기내에서 증식시킨 식물체를 순화하여 pot로 옮겼다. 생육 8주 된 식물체의 잎 (위로부터 3-4번째)을 절취하여 10 μM의 MV 용액이 5 mL씩 들어있는 직경 5 cm의 Petri dish에 3개씩의 잎을 띄웠다. MV 처리실험은 0.4 M sorbitol이 첨가된 MV 용액에 leaf disc를 띄워 25℃의 암 조건에서 12시간 동안 배양한 후 광 조건에서 72시간 배양하여 잎의 손상정도를 육안으로 조사하였다. 이와 같은 실험을 위해 10 개체 이상을 사용하였으며 3회 반복 실시하였다.

결과 및 고찰

형질전환 식물체 개발

*Agrobacteria*와 공동배양한 잎, 혹은 줄기 절편체를 MS 기본배지에 2 mg/L zeatin, 0.01 mg/L NAA, 0.1 mg/L GA3, 400 mg/L claforan, 100 mg/L kanamycin이 포함된 선발배지에 배양하였다. Kanamycin 저항성을 지닌 shoot은 선발배지에 약 3-4 주 정도 배양되었을 때 캘러스와 함께 유도되었다. 형질전환 벡터에 의한 shoot 유도율의 차이는 관찰되지 않았지만, 사용한 식물조직에 의한 차이는 뚜렷하였다. Shoot 유도율은 줄기 절편체에서 두 품종 모두 높게 나타났으며 (대서 82%, 수미 73%), 잎 절편체로부터는 대서 4%, 수미 2.1%로 줄기조직에 비해 낮은 shoot 유도율을 나타내었다. 따라서 대서가 수미에 비해 다소 높은 shoot 유도율을 나타내었을 뿐만 아니라 shoot이 먼저 유도되는 경향을 보였다. 잎이 1-2 장 정도 나왔을 때 뿌리유도배지로 옮겨 뿌리를 유도하였다. 뿌리는 대부분의 shoot로부터 잘 유도되었으며, 뿌리가 발달된 소식물체를 kanamycin이 함유된 MS 기본배지로 옮겨 줄기와 뿌리가 발달된 식물체로 성장하였으며, 기내에서 계속 배양한 결과 소괴경이 형성되었다 (Figure 2). pSSA-K 도입된 형질전환체는 형질전환시키지 않은 식물체와 비교하여 외형적인 차이를 나타내지 않았다. 하지만 형질전환 재료로 사용한 줄기조직에서는 잎에 비해 많은 수의 shoot (2-4개)이 유도되었지만 대부분이 PCR 결과 형질전환되지 않은 것으로 판명되었다 (결과 미제시). 이는 줄기 조직에서 측아에 가까운 부분의 분열능력이 높은 세포들로부터 chimera shoot 또는 비형질전환 shoot들이 많이 유도되었기 때문인 것으로 생각된다.

형질전환 감자 식물체 분석

Kanamycin 배지에서 선발된 소식물체를 대상으로 *SWPA2* 프로모터 특이 primer를 사용하여 PCR을 수행하여 일차적

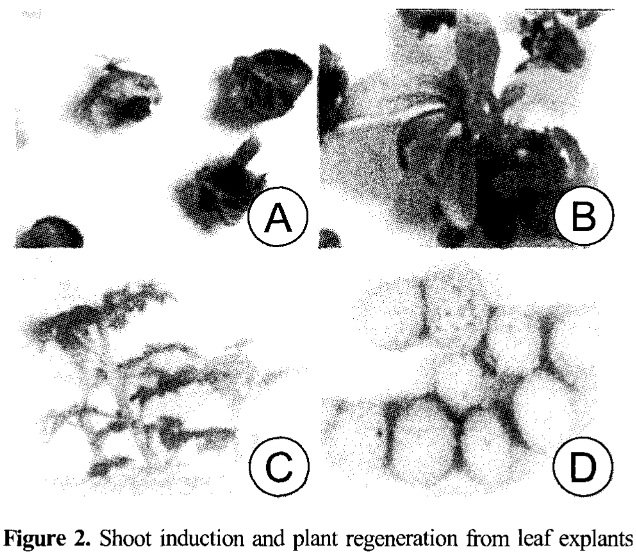

Figure 2. Shoot induction and plant regeneration from leaf explants of potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Atlantic) transformed with *Agrobacterium* harboring pSSA-K vector. A and B, Shoot induction from leaf on MS medium containing 2 mg/L zeatin, 0.01 mg/L NAA, 0.1 mg/L GA_3, 400 mg/L claforan, and 100 mg/L kanamycin. C, Regenerated plants on MS medium with 100 mg/L kanamycin. D, Microtubers formation from transgenic potato plants.

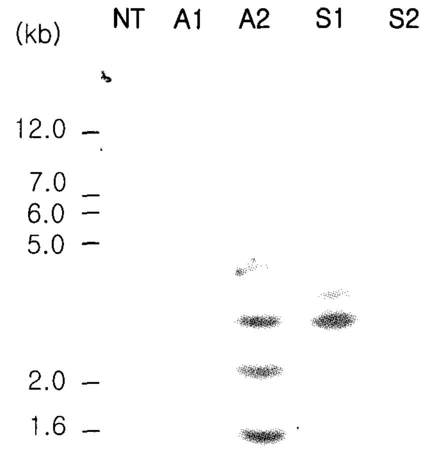

Figure 3. Southern analysis of genomic DNA prepared from transgenic and non-transgenic potato (cv. Atlantic, Superior) leaves. Equal amounts (30 μg) of genomic DNA were digested with the *Eco*RI, electrophoresed in 0.8% agarose gel, and blotted onto a membrane. The blot was hybridized with 593 bp fragment of SWPA2 as a probe. NT, non-transgenic plants; A1 and A2, transgenic lines of cv. Atlantic; S1 and S2, transgenic lines of cv. Superior. The molecular weight markers are shown on the left.

인 선별을 실시하였다. 이때 *SWPA2* primer를 사용하였으며 PCR 결과 593 bp의 DNA 단편이 합성되었다 (결과 미제시). PCR로 외래 유전자 도입이 확인된 식물체를 품종별로 2 개체씩 무작위로 선발하여 *SWPA2* 특이 probe를 이용하여 Southern 분석을 실시하였다. 그 결과 형질전환 식물체내로 pSSA-K가 도입되었음을 확인할 수 있었다 (Figure 3). 그러나 형질전환 시키지 않은 대조구 식물체에서는 어떤 밴드도 나타나지 않았다. 이로써 복수 copy의 외래 유전자가 안정적 도입된 형질전환 감자 식물체를 개발하였으며, 이 형질전환 식물체를 SSA식물체라 명명하였다.

Methyl viologen (MV) 내성 분석

제초제 파라콧 (methyl viologen, MV)은 PSI에서 광환원되어 전자를 산소로 전달하여 세포독성이 있는 산소 라디칼 ($O_2^{\cdot-}$)를 생성시켜 결과적으로 재산화되는 산화환원 (redox) 활성 물질로서 (Tepperman and Dunsmuir 1990; Slooten et al. 1995), 환경스트레스에 대한 내성을 증가시킨 형질전환 식물체의 산화스트레스 내성을 검정하는 스트레스원으로 많이 사용되고 있다 (Foyer et al. 1994; McKersie et al. 1996; Van Camp et al. 1996; Roxas et al. 1997; Oberschall et al. 2000).

기내에서 배양중인 감자 식물체를 pot로 옮겨 4-5일 동안 순화시킨 후 온실에서 생육시켰다. Pot에서 약 8주 생장한 형질전환 감자식물체 3-4번째 잎을 취하여 10 μM MV 용액이 든 Petri dish에 띄워 72시간 배양하여 잎의 손상정도를 관찰하였다 (Figure 4). MV를 처리하여 광 조건에서 배양한 지 24시간이 경과 후부터 잎의 손상이 관찰되기 시작하였다. 비형질전환 식물체 (NT)와 pCAMBIA2300 벡터만을 도입한 식물체 (C)의 잎은 형질전환 식물체 잎에 비해 심한 손상을 받았다. 반면 형질전환 식물체의 경우 MV에 대한 손상 정도는 형질전환 개체마다 각기 다른 반응을 나타내었지만 실험에 이용한 개체의 50% 이상이 MV에 대해 내성을 나타내는 것으로 관찰되었다. 이는 엽록체에서 항산

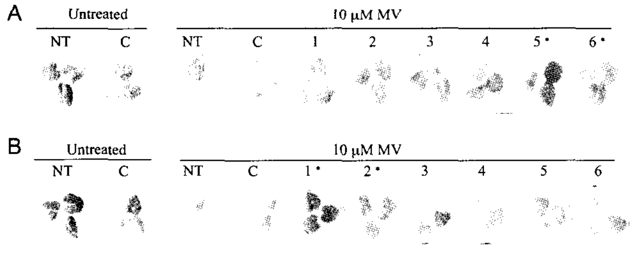

Figure 4. Screening of transgenic potato plants (A: Atlantic, B: Superior) with enhanced tolerance to MV-induced oxidative stress. Leaves of control and transgenic plants were treated with 10 μM MV for 72 hours. Asterisks (*) indicate the selected transgenic plant lines with tolerance against MV. NT, non-transgenic plants; C, pCAMBIA2300 vector-transformed plants. Numbers indicate transgenic plant lines.

화기구에서 일차적으로 활성산소종을 제거하는 SOD와 APX가 과발현되어 MV에 대해 강한 내성을 나타내었을 것이라 생각된다. 일반적으로 대서가 수미에 비해 여러 가지 환경스트레스에 민감한 것으로 보고 된 바 있지만 (Tang et al. 2003) 본 연구에서는 품종간의 큰 차이는 관찰되지 않았다. MV에 대한 내성 결과로부터 MV에 대해 백화현상이 거의 일어나지 않은 식물체를 2 line씩 선발하였다 (*로 표시). 선발된 line들은 복합재해 내성 감자 개발을 위하여 포장에서 식물체 수준에서 MV, 고온 등의 여러 가지 환경스트레스에 대한 내성특성 분석에 재료로 이용할 계획이다. 형질전환 식물체가 MV에 대해 내성을 갖는 것은 MV에 의해 유도되는 산화스트레스에 의해 *SWPA2* 프로모터가 SOD와 APX의 발현을 강하게 유도한 결과라 판단된다. 따라서 MV에 대해 강한 내성을 나타낸 형질전환체를 대상으로 도입유전자의 northern blot 및 Western blot 분석을 수행하여 발현 패턴과의 관련 여부를 추후 확인할 필요가 있겠다.

완두 SOD와 APX를 동시에 엽록체에 발현시킨 형질전환 담배 식물체 및 leaf disc가 MV에 대해 내성이 있음이 보고되었다 (Kwon et al. 2002). POD 유전자를 도입시킨 형질전환 담배 식물체의 leaf disc에 100 μM MV를 처리하였을 경우 처리 6시간 이후부터 손상이 증가하여 10시간째에 80% ion leakage를 나타내었다 (Yun et al. 2000). 이와 같이 식물체 종류에 따라, 도입한 유전자의 특성에 따라 MV로부터 유도된 산화스트레스에 대한 저항성 정도가 조금씩 다르게 나타날 수 있다. 추후 nucleoside diphosphate kinase 2와 같은 복합재해 관련 유전자를 형질전환 감자식물체 개발에 활용해 볼 만한 가치가 있다. 이 유전자를 과발현시킨 애기장대가 여러 가지 스트레스에 대해 내성이 있음이 보고된 바 있다 (Moon et al. 2003).

이상의 결과로부터 SOD와 APX 유전자가 안정적으로 도입되어 엽록체에서 동시에 발현된 형질전환 감자 식물체는 MV에 의해 발생되는 산화스트레스에 내성이 있음이 확인되었다. 특히 고구마 배양세포에서 분리된 *SWPA2* 프로모터가 감자에서도 유전자의 발현을 정상적으로 유도하는 것이 확인되었다. 따라서 최근 들어 심각하게 나빠지는 환경에 대비하여 고염, 건조, 고온, 저온 스트레스 등의 복합스트레스에 저항성을 가지는 감자 품종이 개발될 수 있을 것이다.

적 요

산화스트레스에 내성을 지닌 형질전환 감자 식물체를 개발하기 위하여 산화스트레스에 의해 발현이 강하게 유도되는 *SWPA2* 프로모터에 CuZnSOD와 APX 유전자가 엽록체에서 동시에 발현되도록 연결한 형질전환 벡터 (pSSA-K)를 제작한 후 *Agrobacterium* 매개로 형질전환 하였다. 기관

발생 경로에 의해 kanamycin 저항성 식물체를 재분화 시킨 후 Southern 분석으로 외래 유전자가 안정적으로 감자 게놈내로 삽입되었음을 확인하였다. 형질전환 감자 식물체의 잎 조직에 10 μM methyl viologen을 처리하여 산화스트레스 내성 검정을 조사한 결과 형질전환체는 MV에 대해 강한 내성을 지님을 확인하였다. 내성을 보인 개체 중에서 환경스트레스에 대한 내성 조사를 위하여 품종별로 2 개체씩 선발하였다. 선발된 식물체는 건조, 고온 등의 여러 가지 환경스트레스 내성검정에 이용될 것이며 향후 복합재해 내성 감자 품종이 개발될 수 있을 것으로 기대한다.

사사 - 본 연구는 바이오그린21사업 연구비 지원 (ABC 0050413)의 연구결과이다. 식물 재료를 제공해 준 한국생명공학연구원 김현순 박사에게 감사한다.

인용문헌

Allen RD (1995) Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. Plant Physiol 107: 1049-1054

Allen RD, Webb RP, Schake SL (1997) Use of transgenic plants to study antixodants defenses. Free Rad Biol Med 23: 473-479

Asada K (1999) The water-water cycle in chloroplasts: Scavenging of active oxygen an dissipation of excess photons. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol 50: 601-639

Asemota HN (1995) A fast, simple, and efficient miniscale method for the preparation of DNA from tissues of yam (Dioscorea spp.). Plant Mol Biol Rep 1: 19-21

Foyer CH, Descourvieres P, Kunert KJ (1994) Protection against oxygen radicals: an important defense mechanism studied in transgenic plants. Plant Cell Environ 17: 507-523

Inze D, Van Montagu M (1995) Oxidative stress in plants. Curr Opin Biotechnol 6: 166-172

Kim KY, Kwon SY, Lee HS, Hur YK, Bang JW, Kwak SS (2003) A novel oxidative stress-inducible peroxidase promoter from sweet potato: molecular cloning and characterization in transgenic tobacco plants and cultured cells. Plant Mol Biol 51: 831-838

Kwon SY, Jeong YJ, Lee HS, Kim JS, Cho KY, Allen RD, Kwak SS (2002) Enhanced tolerances of transgenic tobacco plants expressing both superoxide dismutase and ascorbate peroxidase in chloroplasts against methyl viologen-mediated oxidative stress. Plant Cell Environ 25: 873-882

Kwon SY, Choi SM, Ahn YO, Lee HS, Lee HB, Park YM, Kwak SS (2003) Enhanced stress-tolerance of transgenic tobacco plants expressing a human dehydroascorbate reductase gene. J Plant Physiol 160: 347-353

Lee HS, Kim KY, You SH, Kwon SY, Kwak SS (1999) Molecular characterization and expression of a cDNA encoding copper/zinc superoxide dismutase from cultured cells of cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Mol Gen Genet 262: 807-814

McKersie BD, Bowlwy SR, Harjanto E, LePrince O (1996) Water-deficit tolerance and field performance of transgenic alfalfa overexpression superoxide dismutase. Plant Physiol 111: 1177-1181

Moon HJ, Lee BY, Choi G, Shin DJ, Prasad T, Lee OS, Kwak SS, Kim DH, Nam JS, Bahk JD, Hong JC, Lee SY, Cho MJ, Lim CO, Yun DJ (2003) NDP kinase 2 interacts with two oxidative stress-activated MAPKs to regulate cellular redox state and enhances multiple stress tolerance in transgenic plants. Proc Natl Acad Sci USA 100: 358-363

Murashiga T, Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant 15: 473-497

Oberschall A, Deak M, Torok K, Saa L, Vass I, Kovacs I, Feher A, Dudits D, Horvath GV (2000) A novel aldose/aldehyde reductase protects transgenic plants against lipid peroxidation under chemical and drought stresses. Plant J 24: 437-446

Roxas VP, Smith RK, Jr Allen ER, Allen RD (1997) Over-expression of glutathione-S-transferase/glutathione peroxidase enhances the growth of transgenic tobacco seedlings during stress. Nat Biotechnol 15: 988-991

Slooten L, Capiau K, Van Camp W, Van Montagu M, Sybesma C, Inze D (1995) Factors affecting the enhancement of oxidative stress tolerance in transgenic tobacco overexpressing manganese superoxide dismutase in the chloroplasts. Plant Physiol 107: 737-750

Tang Li, Kwon SY, Kwak SS, Sung CK, Lee HS (2003) Susceptibility of two cultivars to various environmental stresses. Korean J Plant Biotechnol 30: 405-410

Tepperman JM, Dunsmuir P (1990) Transformed plants with elevated levels of chloroplastic SOD are not more resistant to superoxide toxicity. Plant Mol Biol 14: 501-511

Van Camp W, Capiau K, Van Montague M, Inze D, Stoolen L (1996) Enhancement of oxidative stress tolerance in transgenic tobacco plants overproducing Fe-superoxide dismutase in chloroplasts. Plant Physiol 112: 1703-1714

Youm JW, Jeon JH, Jung JY, Lee BC, Kang WJ, Kim MS, Kim CJ, Joung H, Kim HS (2002) Production of VP6 gene into potato plants by *Agrobacterium*-mediated transformation and analysis of VP6 expression in transgenic potatoes. Korean J Plant Biotechnol 29: 93-98

Yun BW, Huh GH, Lee HS, Kwon SY, Jo JK, Kim JS, Cho KY, Kwak SS (2000) Differential resistance to methyl viologen in transgenic tobacco plants that express sweet-potato peroxidases. J Plant Physiol 156: 504-509

(접수일자 2004년 6월 1일, 수리일자 2004년 6월 9일)